

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI LABU (*Cucurbita
moschata* *Durch*) TERHADAP LAMA WAKTU TIDUR MENCIT YANG
DIINDUKSI FENOBARBITAL**

(Skripsi)

Oleh:

Jihan Nur Pratiwi



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI LABU (*Cucurbita
moschata* *Durch*) TERHADAP LAMA WAKTU TIDUR MENCIT YANG
DIINDUKSI FENOBARBITAL**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK
ETANOL BIJI LABU (*Cucurbita moschata
Durch*) TERHADAP LAMA WAKTU TIDUR
MENCIT YANG DIINDUKSI FENOBARBITAL**

Nama Mahasiswa

Jihan Nur Pratiwi

No. Pokok Mahasiswa

1618011003

Program Studi

Pendidikan Dokter

Fakultas

Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Dr. dr. Asep Sukohar, S. Ked, M. Kes
NIP 19690513 2000112 1 004

dr. Dwita Oktaria, S. Ked, M. Pd. Ked
NIP 19841015 201012 2 003

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. Dyah Wulan S.R.W., SKM., M. Kes
NIP. 19720628 199702 2 001

MENGESAHKAN

1. Tes Penguji

Ketua

: Dr. dr. Asep Sukohar, S. Ked, M. Kes

Sekretaris

: dr. Dwita Oktaria, S. Ked, M. Pd. Ked

Penguji

Bukan Pembimbing

: dr. Dwi Indria Anggraini, S. Ked, M. Sc, Sp. KK

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. Dyah Wulan SHW., SKM., M.Kes

NIP 19720628 199702 2 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 31 Desember 2019

LEMBAR PERNYATAAN

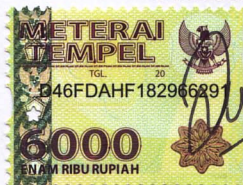
Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

Skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Labu (*Cucurbita moschata* Durh) Terhadap Lama Waktu Tidur Mencit yang Diinduksi Fenobarbital”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 11 Desember 2019

Pembuat Pernyataan



Jihan Nur Pratiwi

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI LABU (*Cucurbita moschata* Durh) TERHADAP LAMA WAKTU TIDUR MENCIT YANG DIINDUKSI FENOBARBITAL

Oleh

JIHAN NUR PRATIWI

Latar Belakang : Gangguan tidur merupakan gabungan kondisi pada kualitas, kuantitas, dan waktu tidur, yang dapat memberikan dampak buruk bagi kesehatan fisik dan psikologi manusia. Tidur diatur oleh sistem aktifitas retikular yang dipengaruhi oleh neurotransmitter triptofan. Biji labu merupakan bahan alam dengan kandungan triptofan yang tinggi, triptofan dapat meningkatkan kualitas tidur dengan memproduksi serotonin dan melatonin sebagai inisiasi tidur.

Metode : Penelitian menggunakan kuasi eksperimental dengan metode *post test only controlled group design*. Sampel menggunakan 25 mencit yang dibagi dalam lima kelompok yaitu kontrol negatif (K0) diberikan NaCl 0,9%, kontrol positif (K1) diberikan fenobarbital 40 mg/kgBB, perlakuan satu (P1) diberikan ekstrak etanol biji labu 40mg/gBB dan fenobarbital 40 mg/kgBB, perlakuan dua (P2) diberikan ekstrak etanol biji labu 80 mg/kgBB dan fenobarbital 40 mg/kgBB, perlakuan tiga (P3) diberikan ekstrak etanol biji labu 160 mg/gBB dan fenobarbital 40 mg/kg. Waktu tidur mencit diukur mulai dari mencit kehilangan reflek *righting* dan kembali dapat melakukan reflek *righting*.

Hasil : Penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan lama waktu tidur mencit yang diberikan ekstrak etanol biji labu pada dosis 40 mg/gBB, 80 mg/gBB, dan 120 mg/gBB dengan waktu tidur tertinggi pada dosis 120 mg/gBB yaitu sebesar 95,9 menit.

Simpulan : Pemberian ekstrak etanol biji labu dapat meningkatkan lama waktu tidur mencit.

Kata Kunci : Biji labu, fenobarbital, tidur, triptofan

ABSTRACT

THE EFFECT OF PUMPKIN SEED (*Cucurbita moschata* *Durch*) ETHANOL EXTRACT TOWARD SLEEP DURATION OF MICE INDUCED BY PHENOBARBITAL

By

JIHAN NUR PRATIWI

Background : Sleep disorders are a combination of quality, quantity, and sleep time, which can provide adverse effect for physical health and human psychology. Sleep is regulated by the reticular system which depend on tryptophan neurotransmitters. Pumpkin seeds are natural source contain with highest tryptophan, tryptophan can improve sleep quality by producing serotonin and melatonin as initiators of sleep.

Method : This study used a quasi-experimental research method with post test only controlled group design. The sample were 25 mice divided into five groups, negative control (K0) given NaCl 0.9%, positive control (K1) given phenobarbital 40 mg/kgBB, first treatment (P1) was given ethanol extract of 40 mg/gBB pumpkin seeds and phenobarbital 40 mg/kgBB, second treatment (P2) was given ethanol extract of pumpkin seeds 80 mg/gBB and phenobarbital 40 mg/kgBB, third treatment (P3) were given ethanol extract of 160 mg/gBB pumpkin seeds and phenobarbital 40 mg/kgBB. Bedtime of mice was measure starting from the mice lose the righting reflex and re-doing the righting reflex.

Results : This study showed an increase in sleep duration of mice given pumpkin seed ethanol extract at dose of 40 mg/gBB, 80 mg/gBB, and 120 mg/gBB with the highest sleep duration at dose of 120 mg/gBB for about 95.9 minutes.

Conclusion : Pumpkin seed ethanol extract extends mice sleep time

Keywords : Pumpkin seed, phenobarbital, sleep, tryptophan

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

Skripsi dengan judul “**Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Labu (*Cucurbita moschata* Durch) Terhadap Lama Waktu Tidur Mencit yang Diinduksi Fenobarbital**” adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 11 Desember 2019

Pembuat Pernyataan

Jihan Nur Pratiwi

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Lampung Selatan pada tanggal 27 Maret 1998, sebagai anak pertama dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Dr. Muslim Ansori, M.Si, dan Ibu Dewi Anggraini, S.P.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK Lampung Selatan pada tahun 2004. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Negeri Terban Sari II Yogyakarta pada tahun 2010, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPN 22 Bandar Lampung pada tahun 2013, dan Sekolah Menengah Akhir (SMA) diselesaikan di SMAN 1 Bandar Lampung pada tahun 2016. Pada tahun 2016 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur seleksi Undangan.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif berkegiatan pada organisasi yaitu Sekretaris Bidang Pendidikan tahun 2017/2018 di FSI (Forum Studi Islam) Ibnu Sina, Sekretaris Bidang Media dan Jurnalistik tahun 2018/2019 di Lampung University Researcher (LUNAR), dan Sekretaris Bidang Pengabdian Masyarakat tahun 2018/2019 di PMPATD Pakis Rescue Team. Selain itu penulis pernah menjadi Juara II bidang Urologi pada lomba Universitas Lampung Medical Olympiad (UNIMED) tahun 2019 dan menjadi delegasi bidang Urologi pada Indonesia International Medical Olympiad (IMO) pada tahun 2019.

Dedicated to my constant source of love, who always giving me the support and encouragement during the challenges of my whole college life, Ayah, Ibu, dan ketiga adikku.

***“Sebaik-baiknya manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia lainnya.”
(H.R Ahnaf, ath-Thabrani, ad-Daruqutni)***

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan segala kasih, karunia, dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Labu (*Cucurbita moschata* Durh) terhadap Lama Waktu Tidur Mencit yang Diinduksi Fenobarbital”

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat masukan, bantuan, dorongan, saran, bimbingan dan kritik dari berbagai pihak. Maka dengan segenap kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Karomani, M. Si, selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Ibu Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, SKM., MKM, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. Bapak Dr. dr. Asep Sukohar, S. Ked, M.Kes selaku pembimbing pertama yang selalu bersedia untuk meluangkan waktunya, memberikan nasihat, bimbingan, saran, dan kritik yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
4. Ibu dr. Dwita Oktaria, S. Ked, M. Pd. Ked selaku pembimbing kedua yang selalu bersedia untuk meluangkan waktunya, memberikan nasihat, bimbingan, saran, dan kritik yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;

5. Ibu dr. Dwi Indria Anggraini, S. Ked, M.Sc, Sp. KK selaku pembahas atas kesediannya untuk senantiasa memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dimana sangat bermanfaat untuk memperbaiki dan menyempurnakan penulisan skripsi ini;
6. Bapak Sutarto, S.K.M, M. Epid, selaku pembimbing akademik atas bimbingan dan nasehatnya selama ini;
7. Kepada orangtua, ayah Muslim Ansori dan ibu Dewi Anggraini atas segala cinta dan kasih sayang. Tidak ada hentinya Ayah dan Ibu selalu mengingatkan, membimbing, memberikan arahan, serta nasihat selama hidup penulis. Kalian adalah alasan penulis tidak menyerah dalam menyelesaikan studi ini. Terima kasih atas segala doa dan usaha demi kelancaran penulis dalam menyelesaikan studi;
8. Kepada adik-adiku, terima kasih kepada Abang Lukman Nur Hidayat yang selalu sabar, menyemangati, dan mendoakan penulis. Terima kasih kepada Ayuk Nabila Rahmadiani atas semangat dan doanya selama ini. Dan kepada Adik Muhammad Sulthon Abdul Ghani yang selalu dapat meringankan beban pikiran penulis dalam menyelesaikan studi;
9. Seluruh keluarga besar lainnya, terimakasih selalu mendoakan dan memberikan dukungan kepada penulis selama masa studi;
10. Sahabatku Khoirun Nisa yang selalu menjadi tumpahan penulis dalam keadaan senang, sedih, suka dan cita sejak masa propti hingga titik akhir dalam penyelesaian studi ini.
11. Kepada Diki Prawira Adifa atas segala bantuan, semangat, dan waktunya dalam membantu penulis dalam menyelesaikan studi.

12. Kepada CUP-CUP; Khoirun Nisa, Retno Arienta, Mega Rusdiyanti, Arsyka Hunjri Ar-Rahmah yang selalu menemani, menjadi penyemangat, membantu, dan mendukung penulis selama masa perkuliahan. Dan dua ADEK; Ester dan Rani yang selalu menyemangati dan menjadi teman belajar penulis.
13. Kepada GRUP OSCE; Icha, Revina, Ayu, Lisa, Nia. Terima kasih atas tempat singgahnya dan selalu membantu penulis setiap OSCE.
14. Seluruh teman angkatanku, TRIGEMINUS, terima kasih untuk tahun-tahun sulit yang sudah kita lewati bersama. Semoga suka dan duka yang kita hadapi akan selalu menjadi kenangan indah di kemudian hari.
15. Kepada teman-temanku Heni dan Regi yang selalu mendengarkan kisah penulis dan menyemangati dari jauh. Grup PERPOTOAN: Alaya, Putri, Ratna, Galuh, yang selalu mendukung dan menyemangati penulis. Teman sedari SMP, Ericha, yang dari dulu hingga saat ini selalu ada bagi penulis.
16. Seluruh staf dosen dan civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu, waktu, dan bimbingan yang telah diberikan dalam proses perkuliahan;

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi kita semua. Aamiin.

Bandar Lampung, 11 Desember 2019

Jihan Nur Pratiwi

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Bagi Instansi Terkait	5
1.4.2 Bagi Masyarakat.....	5
1.4.3 Bagi Peneliti	5
1.4.4 Bagi Peneliti Lain.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tidur.....	6
2.1.1 Fisiologi Tidur.....	6
2.1.2 <i>Non Rapid Eye Movement</i> (NREM).....	7
2.1.3 <i>Rapid Eye Movement</i> (REM)	7
2.1.4 Gangguan Tidur	8
2.2 Zat yang Berperan pada Proses Tidur	10
2.2.1 Triptofan.....	11
2.2.2 Serotonin	12
2.2.3 Melatonin	13
2.2.4 Seng.....	14
2.3 Biji labu.....	16
2.3.1 Morfologi Biji Labu	16

2.3.2 Komponen Biji Labu.....	17
2.4 Fenobarbital	18
2.5 Mencit	20
2.6 Refleks <i>Righting</i>	21
2.7 Kerangka Teori	24
2.8 Kerangka Konsep.....	25
2.9 Hipotesis	25
BAB III METODE PENELITIAN	26
3.1 Desain Penelitian	26
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
3.3 Populasi dan Sampel.....	26
3.3.1 Populasi Penelitian.....	26
3.3.2 Sampel Penelitian.....	27
3.4 Kriteria Penelitian	29
3.4.1 Kriteria Inklusi	29
3.4.2 Kriteria Eksklusi.....	29
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian.....	29
3.5.1 Variabel Independen	29
3.5.2 Variabel Dependen.....	29
3.6. Alat dan Bahan Penelitian.....	30
3.6.1 Alat penelitian	30
3.6.2 Bahan Penelitian.....	31
3.7 Prosedur dan Alur Penelitian	31
3.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Labu	31
3.7.2 Penentuan Dosis dan Sumber Bahan.....	32
3.7.3 Penelitian Pendahuluan	33
3.7.4 Prosedur Penelitian.....	34
3.7.5 Alur Penelitian	35
3.8 Rencana Pengolahan dan Analisis Data.....	36
3.8.1 Pengolahan Data.....	36
3.8.2 Analisis Data	36
3.9 Etika Penelitian	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Hasil Penelitian.....	38

4.1.1 Analisis Univariat	39
4.1.2 Analisis Bivariat	39
4.2 Pembahasan	41
BAB V SIMPULAN	48
5.1 Simpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Toksonomi Labu Kuning	16
2. Kandungan Asam Amino dan Mineral Biji Labu	18
3. Toksonomi Mencit <i>Mus musculus</i>	20
4. Jenis Refleks untuk menilai sadar tidaknya hewan	22
5. Definisi Operasional	30
6. Uji <i>post hoc</i> Bonferroni	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Efek diet ambilan triptofan dan sistem syaraf pusat.	12
2. Alur Konversi L-Tryptophan menjadi Serotonin.....	14
3. Labu kuning dan bijinya	16
4. Rumus kimia fenobarbital.....	18
5. Mencit Spesies <i>Mus musculus</i>	20

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Persetujuan Etik

Lampiran 2. Sertifikat Pembelian Mencit

Lampiran 3. Determinasi Biji Labu

Lampiran 4. Surat Izin Peminjaman Animal House

Lampiran 5. Surat Izin Peminjaman Alat dan Lab Fisiologi

Lampiran 6. Waktu Tidur Mencit

Lampiran 7. Uji Analisis

Lampiran 8. Dokumentasi Foto

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gangguan tidur adalah gabungan kondisi pada kualitas, kuantitas, dan waktu tidur pada seseorang (Dawson, 2007). Gangguan tidur menurut *International Classification Of Sleep Disorder* edisi ketiga meliputi insomnia, gangguan tidur terkait pernapasan, gangguan sentral dari hipersomnolen, gangguan tidur irama sirkadian, parasomnia, dan gangguan tidur terkait gerakan (Michael & Sateia, 2014).

Prevalensi gangguan tidur terutama gangguan terbanyak di dunia yaitu jenis insomnia, pada laki-laki sebesar 22,2% dan pada perempuan sebesar 34,2% (Sivertsen *et al.*, 2018). Penelitian yang dilakukan pada bulan Mei 2009 di SLTP Negeri 92 Kelurahan Jati, Jakarta Timur dengan sampel penelitian pelajar berusia 12-15 tahun, menyebutkan 62,9% remaja mengalami gangguan tidur dan gangguan transisi tidur-bangun sebagai gangguan tidur terbanyak (58%). Gangguan tidur yang diteliti, memiliki hubungan dengan kebiasaan tidur, yakni lama tidur di hari kerja atau sekolah dan aktivitas yang dilakukan sebelum tidur (Haryono *et al.*, 2009).

Secara fisiologis, keadaan tidur atau bangun sangat dipengaruhi oleh system *Ascending Reticular Activity System* (ARAS). Bila aktivitas ARAS meningkat seseorang ada dalam keadaan sadar. Sebaliknya, ketika aktivitas ARAS menurun, seseorang akan berada dalam keadaan tidur. Aktivitas ARAS ini sangat dipengaruhi oleh aktivitas neurotransmitter seperti triptofan, sistem serotoninergik, noradrenergik, kolinergik, histaminergik (Czeisler, 2000). Gangguan tidur merupakan salah satu gejala stres yang ditunjukkan dengan pengukuran menggunakan polisomnografi terjadi peningkatan latensi tidur, aktivitas fase *Rapid Eye Movement* (REM), peningkatan aktivitas Elektroensefalogram (EEG) frekuensi cepat, dan penurunan EEG *slow-wave* pada tahap *Non Rapid Eye Movement* (NREM). Stres menyebabkan metabolisme glukosa otak menjadi lebih tinggi pada tahap NREM sehingga terjadi *overarousal* atau mudah terbangun (Germain *et al.*, 2004)

Triptofan banyak terdapat pada bahan alam salah satunya ada pada biji labu kuning. Triptofan adalah asam amino esensial yang terkandung dalam biji labu, dan 5-hidroksitriptofan (5-HTP) adalah hasil metabolit intermediet dari triptofan dalam bentuk neurotransmitter serotonin. Oleh karena itu, triptofan dapat menginduksi tidur dan ketenangan (Payne, 2010). Selain itu biji labu juga mengandung asam amino lain seperti lisin, metionin, tirosin, dan kaya akan zat besi (Patel, 2013). Biji labu salah satu bahan alam yang potensial untuk mengurangi masalah gangguan tidur. Biji labu mengandung 30% asam lemak tidak tersaturasi (asam lemak linoleik and oleik) yang mampu meningkatkan nutrisi. Kandungan lain yang juga penting yaitu triterpenoid, flavonoid,

coumarin, saponin, cucurbitacin, vitamin, mineral, dan tinggi asam amino zinc (Dar *et al.*, 2017). Pada sebuah penelitian yang dilakukan Halson, yaitu menilai faktor yang mempengaruhi kualitas dan kuantitas tidur pada populasi atlet dan pengaruh potensi intervensi nutrisi. Pada perlakuan atlet yang diberikan dosis triptofan sebanyak 1 gram dapat meningkatkan baik latensi tidur maupun kualitas tidur. Hal ini dapat dicapai dengan mengonsumsi kurang lebih 200 gram biji labu. Hormon melatonin dan makanan yang memiliki konsentrasi melatonin dapat menurunkan onset waktu tidur. Sintesis dari 5-HT bergantung pada ketersediaan prekursor pada otak, dan 5-HT adalah prekursor melatonin di kelenjar pineal (Halson, 2014).

Penelitian mengenai perbandingan antara penggunaan triptofan yang berasal dari makanan dengan farmatikal triptofan terhadap penderita insomnia di Ontario, Canada, menunjukkan kelompok makanan 1 (25 gram minyak biji labu kuning dan 25 gram dekstrosa) dan kelompok makanan 2 (250 mg triptofan, 25 gram dekstrosa, 25 gram oat) memiliki hasil yang signifikan ($p \leq 0,05$) dalam menurunkan waktu terbangun saat tidur pada malam hari (19.2% dan 22.1%), meningkatkan efisiensi tidur (5.19% dan 7.36%), dan meningkatkan kualitas tidur subjektif (12.2% dan 11.8%) dibandingkan dengan kelompok makanan 3 (50 gram oat). Total 57 subjek (44 wanita, 12 lelaki) secara acak dimasukkan ke dalam salah satu dari tiga perlakuan yaitu 20 orang pada kelompok makanan 1, 20 orang pada kelompok makanan 2, dan 17 orang pada kelompok makanan 3. Makanan yang mengandung triptofan termasuk biji labu kuning telah menunjukkan peningkatan kualitas tidur. Makanan yang mengandung protein

triptofan dalam kombinasi dengan tinggi glikemik karbohidrat menunjukkan peningkatan kualitas tidur pada penderita insomnia berat (Hudson *et al.*, 2005).

Labu kuning merupakan sumber bahan pangan lokal yang selama ini diolah dengan cara direbus, dikukus, atau digunakan sebagai makanan olahan. Jumlah produksi labu kuning pada tahun 2010 pada data BPS mencapai 369.846 ton. Namun tingkat konsumsi labu kuning di Indonesia masih sangat rendah yaitu kurang dari 50 kg per kapita per tahun (Santoso *et al.*, 2013).

Berdasarkan hal di atas, penelitian ini penting dilakukan untuk meneliti potensi bahan alam berupa biji labu (*Cucurbita moschata* *Durch*) terhadap lama waktu tidur mencit yang diinduksi fenobarbital.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, didapatkan rumusan masalah penelitian adalah apakah pemberian biji labu (*Cucurbita moschata* *Durch*) dapat meningkatkan lama waktu tidur mencit yang diinduksi fenobarbital?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian biji labu (*Cucurbita moschata* *Durch*) terhadap lama waktu tidur mencit yang diinduksi fenobarbital.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui perbedaan lama waktu tidur mencit diberi dan diinduksi fenobarbital dengan yang diberikan fenobarbital saja.
2. Mengetahui apakah kenaikan dosis biji labu yang diberikan memiliki pengaruh terhadap lama waktu tidur mencit.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Instansi Terkait

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi data dasar untuk instansi terkait dan sebagai pengetahuan mengenai kandungan biji labu yang dapat mengatasi gangguan tidur.

1.4.2 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini dapat menambah pengetahuan dan wawasan masyarakat mengenai bahan alam biji labu untuk mengatasi gangguan tidur.

1.4.3 Bagi Peneliti

Dengan penelitian ini diharapkan dapat menerapkan ilmu yang telah didapat selama perkuliahan. Serta menambah pengalaman dan pengetahuan peneliti terkait bahan alam dan aplikasinya pada kehidupan sehari-hari.

1.4.4 Bagi Peneliti Lain

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan metode yang lebih baik

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tidur

2.1.1 Fisiologi Tidur

Tidur merupakan keadaan berhenti badan dan kesadaran (biasanya dengan memejamkan mata), mengistirahatkan badan dan kesadarannya, berbaring, atau keadaan tidak aktif (KBBI, 2016). Tidur adalah proses aktif, bukan hanya hilangnya keadaan terjaga, yang terdiri dari periode-periode tidur paradoksal dan gelombang lambat yang bergantian. Tingkat aktivitas otak keseluruhan tidak berkurang selama tidur. Selama tahap-tahap tertentu tidur, penyerapan oksigen oleh otak bahkan meningkat melebihi tingkat normal sewaktu terjaga (Sherwood, 2014). Dalam pandangan ilmu pengetahuan, tidur didefinisikan sebagai dasar dari perilaku seseorang ketika sadar dan berhubungan dengan perubahan psikologis yang muncul pada ritme kelistrikan otak yang sadar ketika tertidur (Chokroverty, 2010). Pola tidur terdiri dari dua jenis yang ditandai oleh pola EEG yang berbeda yaitu periode tidur gelombang-lambat atau *Non Rapid Eye Movement* (NREM) dan tidur paradoksal atau *Rapid Eye Movement* (REM) (Sherwood, 2014).

2.1.2 *Non Rapid Eye Movement (NREM)*

Periode tidur gelombang lambat atau NREM memiliki empat tahapan yang masing-masing memperlihatkan gelombang EEG yang semakin pelan dengan amplitudo semakin besar. (Sherwood, 2014). Stadium NREM terdiri dari (Tortora & Derrickson, 2014):

1. Stadium 1 adalah stadium transisi antara sadar dan tidur yang normalnya berlangsung 1-7 menit. Seseorang akan merasa relaks dengan mata tertutup, namun mudah terbangun dan mengatakan bahwa mereka tidak merasa tertidur.
2. Stadium 2 adalah tidur ringan yang merupakan stadium pertama dari tidur sejati. Pada stadium ini seseorang mulai sulit untuk dibangunkan. Mimpi telah terjadi dan mata bergerak dari sisi ke sisi.
3. Stadium 3 adalah periode sedang pada tidur mendalam. Suhu tubuh dan tekanan darah menurun, semakin sulit seseorang terbangun. Stadium ini muncul 20 menit dimulai sejak seseorang mulai terlelap.
4. Stadium 4 adalah level terdalam dari tidur. Meskipun metabolisme otak dan suhu tubuh menurun secara signifikan, kebanyakan refleks utuh dan tonus otot sedikit menurun. Tidur sambil berjalan biasa terjadi pada stadium ini.

2.1.3 *Rapid Eye Movement (REM)*

Tidur paradoksal atau REM jika dibandingkan dengan tidur NREM yang memperlihatkan gelombang EEG lambat, pada tidur paradoksal terdapat gambaran gelombang yang serupa dengan EEG pada orang sadar penuh.

Aktivitas motorik ditandai tonus otot, pada gelombang-lambat masih cukup dan sering bergerak. Sementara pada tidur paradoksal, terjadi inhibisi mendadak tonus otot sehingga tidak ada gerakan. Tidur gelombang-lambat juga menunjukkan adanya penurunan ringan pada kecepatan jantung, kecepatan pernapasan, dan tekanan darah, berbeda dengan tidur paradoksal yang menunjukkan perubahan ireguler. Bermimpi sering muncul pada tidur paradoksal dibanding dengan tidur gelombang-lambat, sejalan dengan sulitnya tidur paradoksal dibangunkan dibanding dengan tidur gelombang-lambat yang mudah terbangun. Presentase lamanya waktu tidur yaitu 80% pada tidur gelombang-lambat dan 20% pada tidur paradoksal (Sherwood, 2014).

2.1.4 Gangguan Tidur

Irama tidur merupakan pola tingkah laku berhubungan dengan interaksi pada sistem aktivasi retikular. Perangsangan daerah retikularis yang merupakan suatu daerah gabungan antara nuclei dan serabut-serabut, dimana nuclei menerima serabut afferen dari *tractus ascendens* (seperti *tractus spinothalamicus*) dan dari serabut *descendens* dari *cortex cerebri*, *tectum*, *corpus striatum*, *cerebellum* dan *nucleus ruber*, akan menyebabkan kondisi terjaga/waspada pada hewan di laboratorium. Sedangkan kerusakan pada daerah tersebut menyebabkan hewan mengalami kondisi koma menetap. Sistem aktivasi retikular diatur oleh kontrol *nukleus raphe* dan *locus coeruleus*. Di mana sel-sel dan *nucleus raphe* mensekresi serotonin dan *locus coeruleus* mensekresi

epinephrine. Jika *nukleus raphe* dirusak atau sekresinya dihambat, pada hewan percobaan dapat menimbulkan kondisi tidak tidur/berkurangnya jam tidur yang mirip dengan kejadian insomnia. Sedangkan bila *locus coeruleus* yang dirusak, akan terjadi penurunan atau hilangnya tidur REM, sedangkan tidur non REM tak berubah. Sistem limbik, yang kita kenal sebagai pusat emosi, juga berhubungan dengan terjaga/waspada. Mungkin hal inilah yang menyebabkan mengapa kondisi ansietas dan gangguan emosi lainnya dapat mengganggu tidur, dan menyebabkan insomnia (Al-Shaarawy, 2011).

Berdasarkan *International Classification of Sleep Disorder*, gangguan tidur dibagi menjadi enam divisi utama meliputi:

a. Insomnia

Insomnia adalah kesulitan yang terjadi secara terus-menerus pada inisiasi tidur, durasi, konsolidasi, atau kualitas yang terjadi meskipun ada peluang dan keadaan yang cukup untuk tidur, dan menghasilkan beberapa bentuk gangguan pada siang hari.

b. Gangguan tidur terkait pernapasan

Gangguan tidur terkait pernapasan adalah gangguan yang mencakup beberapa kondisi, ditandai oleh gangguan pernafasan saat tidur: gangguan tidur apnea (*Obstructive Sleep Apnea*), gangguan tidur apnea sentral, gangguan hipoventilasi terkait tidur, dan gangguan hipoksemia terkait tidur. Lebih dari satu kondisi ini sering hadir pada pasien yang sama.

c. Gangguan tidur dari hipersomnolen

Gangguan tidur dari hipersomnolen atau kantuk di siang hari, yaitu ketidakmampuan untuk tetap terjaga dan waspada selama episode utama terjaga pada siang hari, yang mengakibatkan periode tidur tidak dapat diredam atau serangan tidak sadar dari rasa kantuk atau tidur, adalah keluhan utama dalam kelompok gangguan ini.

d. Gangguan tidur irama sirkadian

Gangguan tidur irama sirkadian adalah gangguan yang disebabkan oleh perubahan sistem pengatur waktu sirkadian, mekanisme dari ketidaksejajaran ritme sirkadian endogen dan lingkungan eksternal.

e. Parasomnia

Parasomnia adalah gangguan yang ditandai dengan terjadinya motorik yang kompleks atau peristiwa/pengalaman perilaku saat tidur, dalam tidur atau gairah dari tidur. Parasomnia dapat terjadi selama setiap tahap tidur: NREM, REM atau selama transisi ke dan dari tidur.

f. Gangguan tidur terkait gerakan

Gangguan tidur terkait gerakan yaitu berhubungan dengan tidur relatif sederhana, sering gerakan stereotip yang terjadi selama tidur atau pada permulaan tidur (Michael & Sateia, 2014).

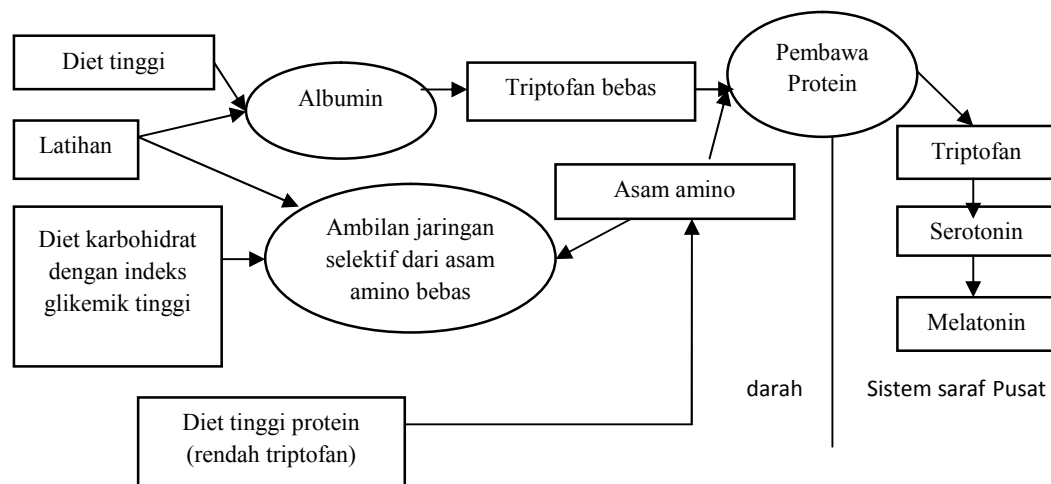
2.2 Zat yang Berperan pada Proses Tidur

Aktivasi ARAS dipengaruhi oleh beberapa neurotransmitter. Neurotransmitter merupakan substansi sel saraf yang digunakan untuk berkomunikasi dengan sel

saraf lainnya (Sukohar, 2015). 5-Hidroksitriptofan (5-HTP) adalah metabolit intermediet asam amino esensial L-triptofan (LT) dalam biosintesis serotonin. Serotonin (5-HT) adalah neurotransmitter monoamine yang memainkan peran utama dalam beberapa fungsi fisiologis termasuk irama sirkadian, termoregulasi, emosi, kognisi dan nosisepsi. Area preoptik dari hipotalamus yang mengandung area preoptik ventrolateral (VLPO) adalah satu-satunya wilayah otak di mana prekursor 5-HT dapat mengembalikan periode tidur yang lama. VLPO menjadi struktur otak utama yang menginduksi tidur gelombang lambat (NREM), itu kemudian dihipotesiskan bahwa modulasi 5-HT aktivitas saraf dalam struktur ini sangat penting untuk pengaturan tidur (Rancillac, 2016).

2.2.1 Triptofan

Triptofan adalah asam amino esensial yang ditemukan dalam banyak makanan berbasis protein termasuk daging, susu, buah-buahan, dan biji-bijian. Indeks glisemik tinggi dan makanan glikemik berlebih juga meningkatkan ketersediaan triptofan. Kadar triptofan plasma ditentukan oleh keseimbangan antara asupan makanan dan pemindahannya dari plasma sebagai bagian dari peran penting dalam biosintesis protein. Selain perannya dalam pembentukan protein, triptofan merupakan prekursor untuk sejumlah metabolit (Friedman & Levin, 2012)



Gambar 1 Efek diet ambilan triptofan dan sistem syaraf pusat (Halsen, 2014).

2.2.2 Serotonin

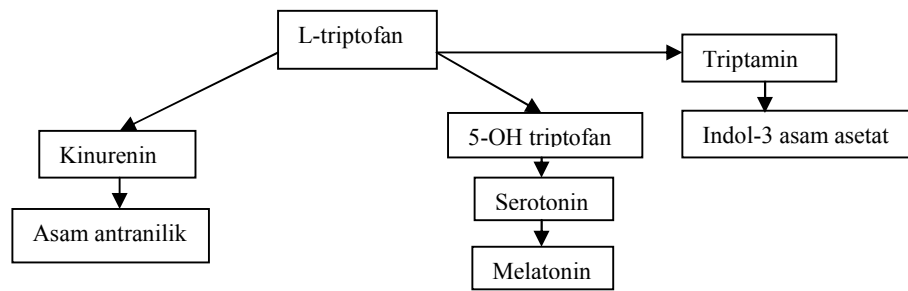
Sintesis serotonin terjadi di perifer dalam neuron usus, sel-sel enterochromaffin, dan di pusat dalam neuron-neuron raphe pada batang otak (Sánchez *et al.*, 2015). Agar produksi serotonin sentral terjadi, triptofan perlu mendapatkan akses ke sistem saraf pusat (SSP) melalui sawar darah-otak. Setelah di SSP, L-triptofan dihidroksilasi menjadi 5-hidroksitriptofan oleh enzim triptofan hidroksilase tipe 2, diikuti oleh dekarboksilasi selanjutnya melibatkan enzim asam L-aromatik dekarboksilase menjadi serotonin (*5-hydroxytryptamine* atau 5-HT). Serotonin kemudian dibawa ke dalam vesikel oleh isoform 2 transporter vesicular monoamine dari neuron *raphe*. Degradasi serotonin adalah melalui monoamin oksidase tipe A dan aldehyd dehidrogenase menjadi asam serotonin metabolit utama *5-hydroxyindoleacetic acid* (SHIAA). Kadar serotonin juga dipengaruhi oleh enzim pendegradasi triptofan, indoleamin 2,3-dioksigenase, dan tetrahydrobiopterin, kofaktor triptofan hidroksilase. Serotonin memodulasi beragam fungsi termasuk tidur,

mengontrol nafsu makan dan suhu, suasana hati dan kognisi (Jenkins *et al.*, 2016).

5-HTP telah terbukti bermanfaat dalam mengobati insomnia, terutama dalam meningkatkan kualitas tidur dengan meningkatkan tidur REM. Delapan subyek normal dipantau untuk menentukan efek 5-HTP pada tidur *rapid eye movement* (REM). Sebanyak 600 mg 5-HTP diberikan kepada subjek dengan cara berikut: 200 mg pada 9:15 sore, diikuti oleh 400 mg pada 11:15 sore. Peningkatan yang signifikan dalam jumlah tidur REM diamati ketika subjek mengambil 5-HTP (118 ± 14 menit vs 98 ± 11 menit, $p < 0,005$) (Timothy & Birdsall, 1998).

2.2.3 Melatonin

Melatonin atau *N-acetyl-5-methoxy tryptamine* merupakan hormon yang dihasilkan dan disekresikan oleh kelenjar pineal, selain kelenjar pineal, retina dan usus juga memproduksi melatonin. Prekursor awal melatonin adalah triptofan. Sintesis melatonin dikontrol baik secara endogen melalui irama sirkadian dan oleh rangsangan cahaya dari luar. Melatonin diproduksi baik dalam keadaan gelap, kenaikan produksi melatonin mulai terjadi 2 jam sebelum tidur dan mencapai puncak produksinya pada jam 2-4 malam (Zhu & Zee, 2013).



Gambar 2 Alur Konversi L-Tryptophan menjadi Serotonin (Zagajewski, 2012).

Sintesis melatonin tergantung pada ketersediaan prekursornya, triptofan (TRP), yang merupakan asam amino esensial dan komponen penting dari makanan. Jika asupan TRP sangat terbatas, sintesis melatonin berkurang secara signifikan pada manusia. Sintesis melatonin dikendalikan oleh irama sirkadian endogen dan oleh cahaya lingkungan (Peuhkuri *et al.*, 2012). Tiga efek fisiologis: 1) promosi onset tidur; 2) pemeliharaan tidur; dan 3) pergeseran fase irama sirkadian, tindakan tidak langsung, dan ritme diurnal dalam melatonin itu sendiri telah dikaitkan dengan pemberian melatonin. Pemberian melatonin secara fisiologis (0,1 hingga 0,3 mg) telah terbukti memengaruhi kualitas tidur dan pemeliharaan, sedangkan jumlah yang lebih besar (0,5 mg) memengaruhi tindakan pemindahan fase melatonin. Jumlah oral yang sangat kecil (0,3 mg atau kurang) melatonin dapat meningkatkan melatonin plasma siang hari ke level malam hari (Brzezinski & Wurtman, 2010).

2.2.4 Seng

Seng terdapat pada berbagai jenis bahan makanan, khususnya makanan sumber protein. Seng kadar tinggi ditemukan pada berbagai jenis

makanan di antaranya daging sapi, ayam, buncis, kacang-kacangan, ikan laut jenis tertentu, biji-bijian, sereal difortifikasi dan susu, biji waluh atau labu, biji matahari, protein hewani, telur, kerang (Widowati *et al.*, 2008).

Seng mencapai beberapa kompartemen spesifik SSP setelah meningkat dengan cepat dalam darah, sehingga mengaktifkan jalur sinyal yang bertanggung jawab untuk menginduksi tidur. Aktivitas seng di otak berfokus pada interaksi reseptor glutamatergik, sebab seng berada terutama di vesikel presinaptik dari neuron glutamatergik yang akan dirilis bersama dengan glutamat. Seng tidak hanya ditemukan pada terminal akson glutamatergik tetapi juga di beberapa penghambat terminal akson, glikinergik, otak kecil, dan di sumsum tulang belakang (Cherasse & Urade, 2017).

Pada tahun 2009, sebuah studi populasi pada 890 penduduk Jinan yang sehat di Cina mengevaluasi hubungan antara konsentrasi serum seng dan beberapa faktor fisiologis seperti jenis kelamin, usia, perilaku minum dan merokok, dan tidur. Mengenai tidur, konsentrasi rata-rata tembaga serum tetap konstan terlepas dari lama waktu tidur; Namun, konsentrasi tertinggi serum seng ditemukan pada subyek yang tidur dengan lama waktu normal yaitu pada 7 sampai 9 jam per malam (1,337-1,442 mg/L), dibandingkan dengan yang tidur pendek (<7 jam) dan panjang (> 9 jam) (0,789-0,934 mg/L) (Zhang *et al.*, 2009).

2.3 Biji labu

2.3.1 Morfologi Biji Labu

Biji labu atau dikenal juga sebagai pepita, memiliki bentuk pipih, warna biji hijau tua yang diselubungi kulit biji berwarna kuning pudar. Biji lunak, kenyal, perpaduan rasa manis dan kacang-kacangan. Biji labu masuk ke dalam keluarga *Cucurbitaceae* antara lain *Cucurbita pepo*, *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, dan *Cucurbita mixta* (Patel, 2013).



Gambar 3. Labu kuning dan bijinya (Patel, 2013).

Taksonomi labu kuning adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Toksonomi Labu Kuning (Cronquist, 1998))

Klasifikasi	Nama
Kingdom	Plantae
Subkingdom	Viridiplantae
Divisi	Tracheophyta
Klass	Magnoliopsida
Subklass	Theria
Ordo	Cucurbitales
Family	Cucurbitaceae
Genus	Cucurbita L.
Spesies	<i>Cucurbita moschata</i> Duchene

2.3.2 Komponen Biji Labu

Pada penelitian Milovanovic (2014) menemukan bahwa komponen kimia yang terkandung dalam biji labu terdiri dari air 5.26%, abu 3.26%, protein 24.46%, lemak 38.53%, dan serat kasar 14.77%. Biji dari jenis *C. pepo* dan *C. moschata* dipertimbangkan memiliki lebih banyak gamma tokoferol dibandingkan dengan jenis *C. maxima* yang justru memiliki tingkat beta karoten tertinggi. Biji *C. pepo* diyakini memiliki lebih banyak beta-sitosterol dibandingkan dengan seluruh jenis biji labu. Telah ditemukan bahwa biji labu mengandung paling banyak zat besi dan nutrisi gizi dibandingkan 11 jenis kacang-kacangan lainnya (Chung *et al.*, 2013).

Biji labu juga dikenal untuk kegiatan farmakologis seperti anti-jamur, anti-diabetes, aktivitas anti-bakteri, anti-peradangan, dan efek anti-oksidan. Selain itu, biji labu banyak mengandung asam amino seperti triptofan, lisin, metionin, tirosin dan juga kaya zat besi, oleh karena itu biji ini bermanfaat bagi remaja untuk menyembuhkan anemia yang disebabkan karena kekurangan zat besi (Patel, 2013).

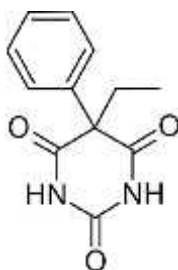
Kandungan asam amino dan mineral tertinggi pada labu dapat dilihat pada tabel 2 berikut;

Tabel 2. Kandungan Asam Amino dan Mineral Biji Labu (USDA, 2007)

Amount per 100 gram		%DV
Protein	18,5 g	37%
Tryptophan	326 mg	
Leucine	1572 mg	
Lysine	1386 mg	
Arginine	3049 mg	
Aspartic Acid	1873 mg	
Glutamic Acid	3262 mg	
Potassium	919 mg	26 %
Magnesium	262 mg	65%
Zinc	10,3 mg	69%

2.4 Fenobarbital

Fenobarbital adalah obat golongan barbiturat dengan rumus kimia 5, fenil-5, etil barbiturat. Barbiturat adalah obat sedatif-hipnotik yang bekerja pada sistem saraf pusat. Sedatif yakni menghilangkan iritabilitas dan kegadungan, sedangkan hipnotik yakni menginisiasi tidur. (Longnecker *et al.*, 2008). Fenobarbital dan pentobarbital adalah obat golongan barbiturat yang digunakan untuk anastesi binatang pengerat (Gargiulo *et al.*, 2012).



Gambar 4 Rumus kimia fenobarbital (Katzung, 2012).

Fenobarbital dan obat golongan barbiturat lainnya bekerja dengan mempengaruhi reseptor GABA, reseptor GABA yang dipengaruhi barbiturat adalah sub tipe A (GABAA) dan B (GABAB). Barbiturat akan memperpanjang pembukaan kanal ion klorida pada reseptor GABA, yang akan mengakibatkan keadaan hiperpolariasi menjadi lebih panjang sehingga terjadi peningkatan proses inhibisi. Barbiturat dapat mengurangi depolarisasi pada reseptor glutamat. Pada dosis tinggi barbiturat dapat bersifat GABA mimetik, sehingga dapat mengaktifkan reseptor GABA tanpa adanya GABA (Katzung *et al.*, 2012). Fenobarbital diberikan secara peroral maupun secara intravena, terdistribusi luas, dapat melewati sawar darah otak dan plasenta. Fenobarbital adalah obat golongan barbiturat yang memiliki waktu paruh terpanjang, yakni pada dewasa adalah 4-5 hari (Longnecker *et al.*, 2008).

Komplikasi yang berkaitan dengan penggunaan fenobarbital adalah koma, kesulitan bernapas hingga depresi pernapasan, serta penurunan tekanan darah. Dosis toksik fenobarbital didapatkan pada pemakaian 1 gram peroral, dosis letal didapatkan pada pemakaian 2 gram atau pada pemakaian 40 sampai 80 mcg/mL. Adapun gejala yang ditimbulkan seperti gangguan kognitif, penurunan denyut nadi, inkoordinasi, mual, kelemahan otot, polidipsi, midriasis, dan penurunan suhu tubuh (Lewis & Adams, 2019).

2.5 Mencit



Gambar 5. Mencit Spesies *Mus musculus* (Dutta & Sengupta, 2016)

Taksonomi mencit adalah sebagai berikut:

Tabel 3. Toksonomi Mencit *Mus musculus*

Klasifikasi	Nama
Kingdom	Animalia
Subkingdom	Bilateria
Filum	Chordata
Klass	Mamalia
Subklass	Theria
Ordo	Rodentia
Family	Muridae
Genus	Mus
Spesies	<i>Mus musculus l</i>

Sumber: (*Integrated Taxonomic Information System*, 2010)

Mencit merupakan hewan yang biasa digunakan untuk hewan percobaan di labolatorium dengan presentase sekitar 59%, mencit memiliki masa hidup maksimal yang jauh berbeda dengan manusia yaitu mencit 4 tahun sedangkan manusia 120 tahun. Namun, mencit memiliki banyak kesamaan dengan manusia dari hal sistem organ, fisiologi tubuh, dan patologis penyakit (Dutta & Sengupta, 2016).

Mencit termasuk ke dalam hewan pengerat, rambut pada tubuhnya berwarna putih atau abu-abu, matanya dapat berwarna merah atau hitam, kulit

berpigmen, namun pada bagian perut sedikit pucat. Pada saat lahir mencit memiliki berat 1-2g, saat dewasa berat mencit jantan biasanya diantara 20-30g sedangkan untuk yang betina 18-35g. Mencit dewasa pada umur 8-12 minggu, rata-rata 10 minggu dan rata-rata usia untuk mencit adalah 24 bulan (Dutta & Sengupta, 2016).

2.6 Refleks *Righting*

Righting reflex atau *labyrinthine righting reflex* merupakan refleks untuk mengembalikan posisi tubuh/orientasi tubuh ke posisi yang normal. Refleks ini diinisiasi oleh reseptor pada labirin pada sistem vestibular yang mendeteksi posisi tubuh tidak pada kondisi yang seharusnya, refleks *righting* akan menghilang jika hewan dalam keadaan tidak sadar (Verhoeven *et al.*, 2015).

Adapun jenis refleks lain untuk menilai kesadaran hewan tercantum pada tabel 4 berikut:

Tabel 4. Jenis Refleks untuk menilai sadar tidaknya hewan (Verhoeven *et al.*, 2015).

Refleks	Definisi	Muncul di hewan pada keadaan		Bergantung pada
		Sadar	Tidak Sadar	
Refleks Batang Otak	Refleks yang berasal dari batang otak			Fungsi saraf kranial pada batang otak
Refleks Kornea	Mengedip secara volunter sebagai respon dari stimulasi kornea	+ (–)	– (+)	Fungsi saraf kranial V, VII, dan otot mata
Refleks Palpebra	Mengedip secara volunter sebagai respon dari memegang kantus media pada mata	+ (–)	– (+)	Fungsi saraf kranial II, III, dan otot mata
Refleks Pupil	Pupil mengecil akibat respon terhadap cahaya	+	–	Fungsi kranial V, VII, dan otot mata
Refleks Perlakuan	Mengedip secara volunter atau kepala bergerak menjauh sebagai respon terhadap jari atau tangan yang diarahkan ke mata hewan	+	–	Fungsi saraf kranial VII, otot mata, dan integrasi korteks motorik
Refleks Spinal	Refleks yang berasal dari medula spinalis			Membutuhkan fungsi medula spinalis, tapi tidak begitu penting dalam koordinasi serebral
Refleks Menghindari Nyeri	Gerakan menjauh tubuh yang diberi rangsang nyeri	+ (–)	– (+)	
Refleks Pedal	Gerakan menjauh kaki sebagai respon dari mencubit jempol hewan	+ (–)	– (+)	
Refleks Righting	Mengondisikan badan pada posisi normal ketika badan dibalikkan	+ (–)	– (+)	

Adapun prosedur dalam melakukan refleks *righting* adalah sebagai berikut

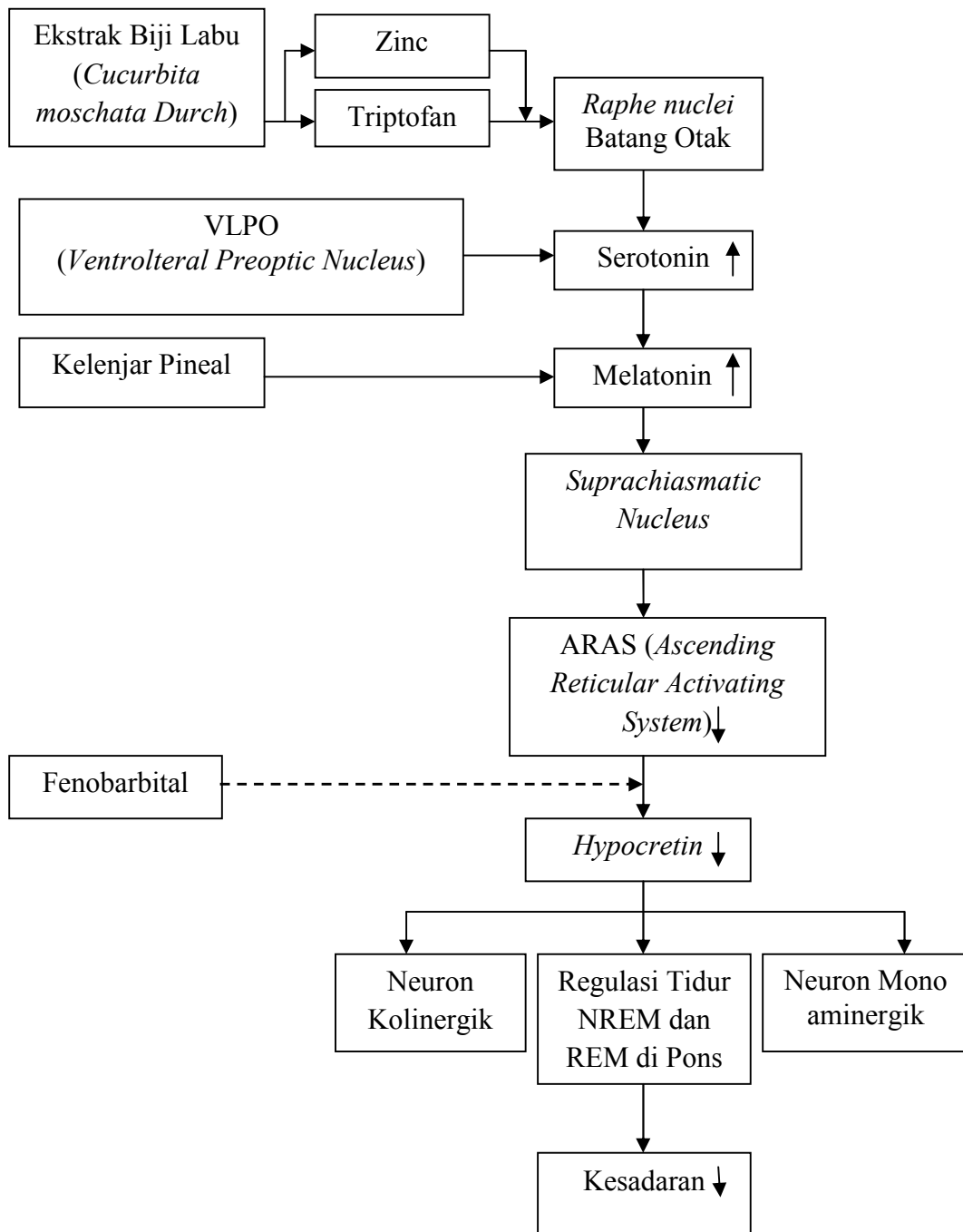
1. Tes semua mencit untuk refleks merangkak dan mencengkram.

2. Injeksi 40 mg/Kg BB (0,5 cc) Fenobarbital secara intraperitoneal (IP) pada tiap mencit (catat waktu injeksi)
3. 15 menit setelah injeksi lakukan lagi tes untuk merangkak dan mencengkram pada tiap mencit. Catat hasilnya.
4. Ulangi tes setelah 30 menit injeksi. Catat hasilnya.

Dengan catatan 30 cm benang yang kencang ditaruh secara horisontal dengan tinggi 45 cm. Gantung kaki belakang mencit ke benang. Normalnya, mencit akan segera menggantungkan badannya ke benang (refleks mencengkram) dan mencit dapat memanjat benang sekitar 5 detik menggunakan kaki depannya (kemampuan merangkak). Interpretasinya yaitu:

1. Efek *Neuroleptic* : Kehilangan kemampuan merangkak tetapi masih ada efek mencengkram
2. Efek *Hypnotic* : Kehilangan kemampuan mencengkram (mencit jatuh karena tidur)

2.7 Kerangka Teori

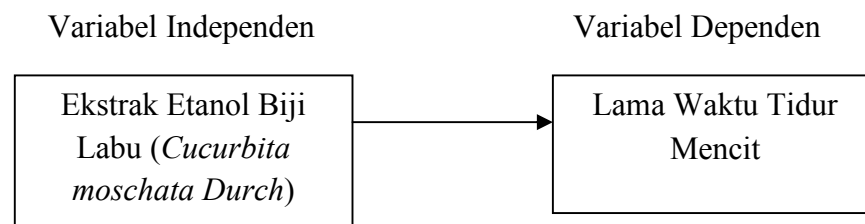


Gambar 6. Kerangka Teori

Keterangan:

- : Eksitasi
- - -> : Inhibisi
- ↑ ↓ : Meningkatkan/ Menurun

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep

Keterangan:

————→ Memperpanjang

2.9 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol biji labu (*Cucurbita moschata* Durh) terhadap lama waktu tidur mencit yang diinduksi fenobarbital.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuasi eksperimental. Desain rancangan yang digunakan adalah *Post Test Only Controlled Group Design*, yaitu jenis penelitian yang mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di area Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, untuk proses pemeliharaan akan dilakukan di *Animal House* Fakultas kedokteran Universitas Lampung. Waktu pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Agustus hingga November tahun 2019.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi adalah suatu kelompok yang terdapat di satu wilayah yang mana subjek dan objek penelitian yang memiliki kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk diajari dan kemudian ditarik

kesimpulannya. Populasi penelitian ini adalah mencit jantan berumur 10 sampai 16 minggu.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah bagian dari populasi yang dipilih dengan cara tertentu sehingga dianggap dapat mewakili populasinya. Jumlah sampel pada penelitian ini ditentukan dengan menggunakan rumus Federer (Federer, 1991).

$$t(n-1) > 15$$

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

t = banyak kelompok

Besar sampel yang dibutuhkan untuk tiap kelompok:

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan menggunakan rumus Federer maka, dalam percobaan ini digunakan sampel sebanyak 4 ekor mencit setiap perlakuan, sehingga jumlah total sampel yang digunakan adalah 20 ekor mencit. Untuk mengantisipasi adanya kriteria eksklusi maka dilakukan koreksi dengan menambahkan 10% dari jumlah anggota tiap kelompok.

$$10\% \times 4 = 0,4 \text{ perkelompok}$$

Jadi, sampel yang dibutuhkan untuk cadangan sebanyak satu ekor mencit perkelompok perlakuan, sehingga tiap kelompok terdapat 5 ekor mencit jantan. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan 25 mencit jantan yang dibagi menjadi lima kelompok. Adapun 5 kelompok tersebut yaitu:

1. Kelompok kontrol negatif (K0): 5 ekor mencit jantan diberikan pakan standar selama 7 hari dan saat perlakuan diberikan NaCl 0,9% IP dengan dosis 1 cc.
2. Kelompok kontrol positif (K1): 5 ekor mencit jantan diberikan pakan standar selama 7 hari dan saat perlakuan diberikan fenobarbital IP dengan dosis 40 mg/kgBB.
3. Perlakuan satu (P1): 5 ekor mencit jantan, diberi pakan standar selama 7 hari dan saat perlakuan diberikan ekstrak etanol biji labu sebanyak 40 mg/gBB, lalu 30 menit setelahnya diberikan fenobarbital IP dengan dosis 40 mg/kgBB.
4. Perlakuan dua (P2): 5 ekor mencit jantan, diberi pakan standar selama 7 hari dan saat perlakuan diberikan ekstrak etanol biji labu sebanyak 80 mg/gBB, lalu 30 menit setelahnya diberikan fenobarbital IP dengan dosis 40 mg/kgBB.
5. Perlakuan tiga (P3): 5 ekor mencit jantan, diberi pakan standar selama 7 hari dan saat perlakuan diberikan ekstrak etanol biji labu sebanyak 160 mg/gBB, lalu 30 menit setelahnya diberikan fenobarbital IP dengan dosis 40 mg/kgBB.

3.4 Kriteria Penelitian

3.4.1 Kriteria Inklusi

1. Mencit jantan
2. Berusia 10-16 minggu
3. Berat 20-40 gram
4. Kondisi fisik sehat dan tidak nampak cacat secara anatomis
5. Bergerak aktif

3.4.2 Kriteria Eksklusi

1. Mencit tampak sakit sebelum perlakuan (rambut rontok, kulit kusam)
2. Didapatkan penurunan badan sebesar 10% selama masa adaptasi
3. Mati selama perlakuan

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Independen

Variabel independen atau varian bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol biji labu (*Cucurbita moschata* Durh) berbagai dosis.

3.5.2 Variabel Dependen

Variabel dependen atau variabel terikat dalam penelitian ini adalah waktu tidur mencit.

Tabel 5. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Ekstrak etanol biji labu	Ekstrak etanol dari biji labu murni.	Mikropipet	gram	Numerik
2	Waktu tidur	<p>Diukur mulai dari mencit tidak dapat melakukan reflek <i>righting</i> sampai dapat kembali melakukan reflek <i>righting</i>. Cara mengukur reflek <i>righting</i>:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tes semua mencit untuk refleksi merangkak dan mencengkram. 2. 30 cm benang yang kencang ditaruh secara horisontal dengan tinggi 45 cm. Gantung kaki belakang mencit ke benang. 3. Injeksi 40 mg/Kg BB (1 cc) Fenobarbital secara intraperitoneal (IP) pada tiap mencit (catat waktu injeksi) 4. 15 menit setelah injeksi lakukan lagi tes untuk merangkak dan mencengkram pada tiap mencit. Catat hasilnya. 5. Ulangi tes setelah 30 menit injeksi. Catat hasilnya. 	<i>Stopwatch</i>	Menit	Numerik

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat penelitian

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Kandang mencit
2. Sonde lambung
3. Gelas ukur
4. Timbangan

5. *Stopwatch*
6. Sarung tangan karet
7. Tempat makan dan minum mencit
8. Sput
9. Mikropipet

3.6.2 Bahan Penelitian

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Mencit jantan
2. Ekstrak etanol biji labu, bahan dari produk adalah biji labu murni tanpa bahan tambahan.
3. Fenobarbital
4. Pakan standar mencit
5. Air minum mencit

3.7 Prosedur dan Alur Penelitian

3.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Labu

Prosedur untuk mendapatkan ekstrak etanol biji labu kuning sebagai berikut:

1. Menimbang biji labu kering sebanyak 500 g.
2. Menyiapkan dan mengeringkan biji labu kuning dalam suhu kamar.
3. Menghaluskan dengan blender biji labu kuning kemudian didapatkan serbuk biji.
4. Merendam serbuk biji labu kuning dengan etanol 96% selama 72 jam.

5. Memisahkan fraksi etanol dari serbuk biji labu kuning yang telah direndam dengan cara disaring.
6. Melakukan evaporasi etanol dengan menggunakan *rotary evaporator* dan hasilnya berupa ekstrak etanol biji labu kuning yang kental.

3.7.2 Penentuan Dosis dan Sumber Bahan

a. Dosis Ekstrak Etanol Biji Labu

Menurut USDA *Food Composition Databases*, kandungan asam amino triptofan dalam biji labu kuning adalah 326 mg per 100 g. Proses ekstraksi akan menyisakan 10% dari berat awal dengan jumlah kandungan triptofan yang tetap, sehingga dapat disimpulkan bahwa 32,6 mg triptofan terdapat dalam 1 g ekstrak etanol biji labu kuning. Dosis triptofan yang dianjurkan untuk dikonsumsi oleh manusia sehingga menimbulkan kualitas tidur subjektif dan meningkatkan latensi tidur minimal sebanyak 1 gram perhari dengan pemberian konsumsi biji labu terhadap atlet (Halsen, 2014). Dosis 1 g triptofan terdapat pada 30,7 g ekstrak biji etanol labu kuning. Konversi dosis manusia ke mencit menggunakan koefisien 0.0026 (Laurence & Bacharach, 1964). Dosis untuk mencit $0,0026 \times 30,7 \text{ g}$ ekstrak etanol biji labu kuning = $0,0798 \text{ g} \approx 0,08 \text{ g} = 80 \text{ mg}$ ekstrak etanol biji labu kuning. Dosis yang akan diberikan ke mencit adalah setengah dari dosis, dosis penuh, dan dua kali dosis, yaitu: 40, 80, dan 160 mg/gBB.

b. Dosis Fenobarbital

Fenobarbital yang digunakan pada penelitian berupa sediaan ampul sebanyak 40mg/kgBB yang diinjeksikan secara Intra Peritoneal (IP) untuk menimbulkan efek sedatif-hipnotik (Wijaya *et al.*, 2018).

c. Sumber Bahan

Biji labu didapatkan dari produk *online* biji labu kering (*Pumpkin Butternut Squash*, *Cucurbita moschata*, Labu Madu, Labu Parang) dari toko benih Arkadia Garden, Depok, Jawa Barat. Fenobarbital didapatkan jenis ampul 1 ml (50 mg) produksi PT. Pharos Tbk.

3.7.3 Penelitian Pendahuluan

Sebelum melakukan penelitian, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan terhadap dosis yang diperoleh dari penelitian sebelumnya. Uji pendahuluan bertujuan untuk memastikan dosis yang didapat dari penelitian sebelumnya efektif. Uji pendahuluan dilakukan menggunakan prosedur penelitian tanpa kelompok kontrol negatif dan positif. Kelompok perlakuan antara lain:

1. Kelompok Perlakuan 1: 3 ekor mencit jantan, diberi pakan standar selama 7 hari dan saat perlakuan diberikan ekstrak etanol biji labu sebanyak 40 mg/gBB, lalu 30 menit setelahnya diberikan fenobarbital IP dengan dosis 40 mg/kgBB.
2. Kelompok Perlakuan 2: 3 ekor mencit jantan, diberi pakan standar selama 7 hari dan saat perlakuan diberikan ekstrak etanol biji labu

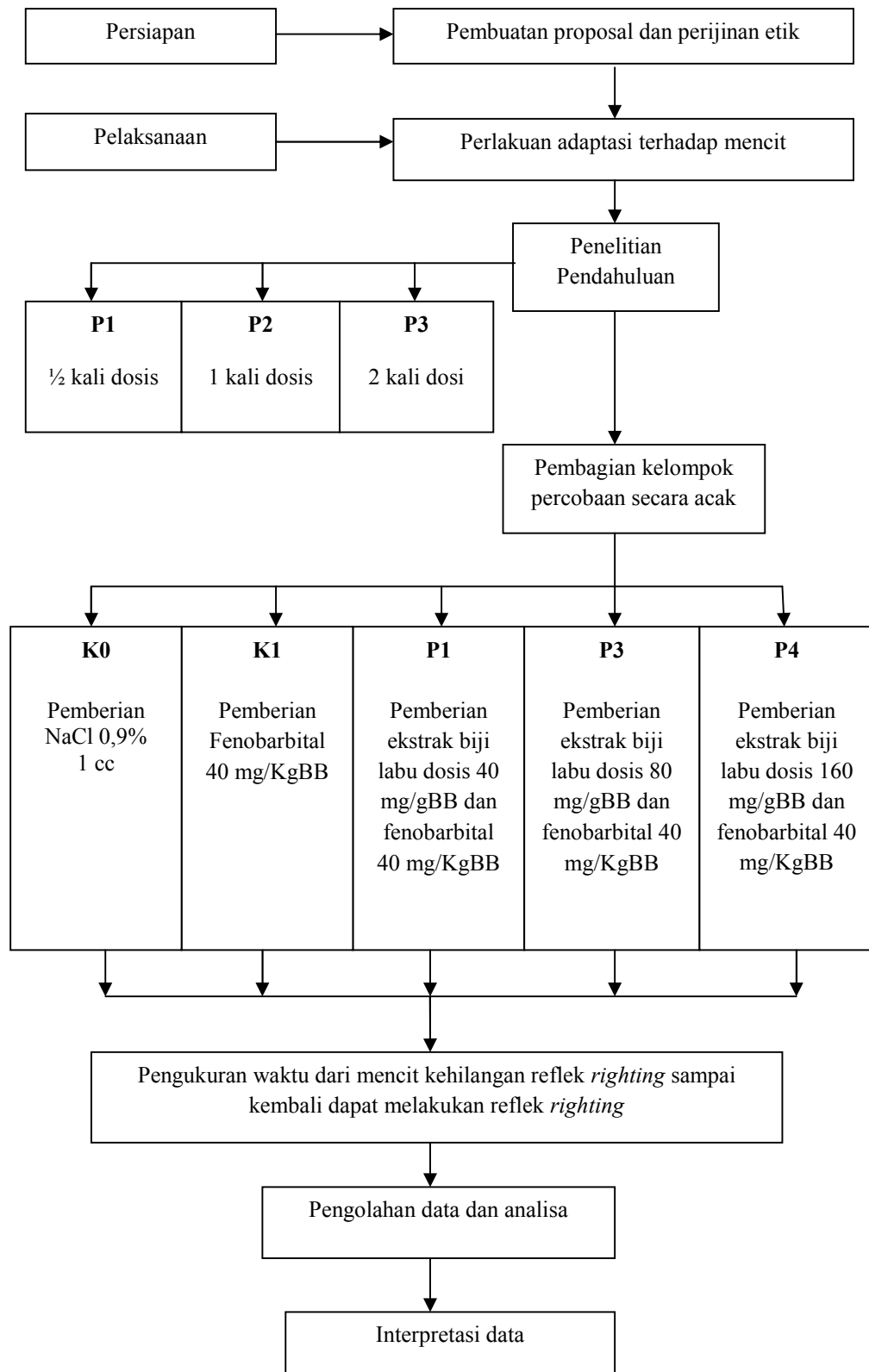
sebanyak 80 mg/gBB, lalu 30 menit setelahnya diberikan fenobarbital IP dengan dosis 40 mg/kgBB.

3. Kelompok Perlakuan 3: 3 ekor mencit jantan, diberi pakan standar selama 7 hari dan saat perlakuan diberikan ekstrak etanol biji labu sebanyak 160 mg/gBB, lalu 30 menit setelahnya diberikan fenobarbital IP dengan dosis 40 mg/kgBB.

3.7.4 Prosedur Penelitian

1. Proses aklimatisasi mencit jantan selama 7 hari yang dilakukan pada *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, selama proses aklimatisasi mencit diberikan pakan standar.
2. Secara acak hewan percobaan dibagi 5 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 4 mencit (kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, dan 3 kelompok perlakuan dengan dosis bertingkat).
3. Mencit dipuasakan selama 8 jam sebelum dilakukan perlakuan.
4. Bahan coba diberikan peroral dengan sonde lambung, pada K1 diberikan fenobarbital 40 mg/kgBB. Pada perlakuan diberikan ekstrak biji labu (*Cucurbita moschata* *Durch*) terlebih dahulu lalu 30 menit kemudian diberikan fenobarbital 40 mg/kgBB.
5. Mencatat waktu dari mencit kehilangan *righting* refleks sampai mencit kembali dapat melakukan *righting* refleks.

3.7.5 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian

3.8 Rencana Pengolahan dan Analisis Data

3.8.1 Pengolahan Data

Data diolah menggunakan program *software* uji statistik dengan nilai $\alpha=0,05$. Kemudian, proses pengolahan data menggunakan program komputer ini terdiri beberapa langkah:

1. *Coding*, untuk mengkonversikan (menerjemahkan) data yang dikumpulkan selama penelitian ke dalam simbol yang cocok untuk keperluan analisis.
2. *Data entry*, memasukkan data ke dalam komputer.
3. Verifikasi, pemeriksaan secara visual terhadap data yang telah dimasukkan kedalam komputer.
4. *Output* komputer, hasil yang telah dianalisis oleh komputer kemudian dicetak.

3.8.2 Analisis Data

Analisis statistik menggunakan program statistik dengan 2 macam analisis data, yaitu analisa univariat dan analisis bivariat.

1. Analisis Univariat

Analisis ini digunakan untuk menentukan distribusi frekuensi variabel bebas dan variabel terikat. Analisis univariat ini akan menentukan distribusi dari rerata waktu tidur mencit antara kontrol dan perlakuan.

2. Analisis Bivariat

Analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah (Dahlan, 2014):

a. Uji normalitas data

Tujuannya mengetahui normalitas distribusi dari suatu data. Data yang digunakan berupa uji *Shapiro-Wilk* karena besar sampel ≤ 50 (20 sampel). Jika data yang telah ditransformasikan ke dalam bentuk p nilainya di atas 0,05 maka distribusi data dinyatakan bawah hasil data adalah normal dan jika nilainya di bawah 0,05 maka diinterpretasikan sebagai tidak normal.

b. Uji Parametri

Pengujian parametrik dilakukan untuk menguji ada tidaknya perbedaan waktu tidur antara kelompok kontrol dan perlakuan. Dilakukan uji *One-Way ANOVA* diikuti dengan *post hoc Bonferroni*. Bila tidak memenuhi syarat uji parametrik atau data dinyatakan tidak normal maka digunakan uji *Kruskal-Wallis*.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian ini diajukan kepada Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan disetujui dengan nomor surat No. 3127/UN26.18/PP.05.02.00/2019. Tiga prinsipnya yaitu: *Replacement*: mengganti dengan hewan yang lebih rendah ordonya, atau mengganti hewan dengan kultur/jaringan atau dengan program komputer. *Reduction*: mengurangi penggunaan hewan coba dengan tetap memberikan hasil yang valid/sahih. *Refinement*: mengurangi stress/rasa nyeri dengan prosedur yang benar atau menggunakan metoda non-invasif (Russel & Burch, 1959).

BAB V SIMPULAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak etanol biji labu (*Cucurbita moschata* *Durch*) memperlama waktu tidur mencit yang diinduksi fenobarbital.
2. Kenaikan dosis ekstrak etanol biji labu (*Cucurbita moschata* *Durch*) berbanding lurus dengan lama waktu tidur mencit yang diinduksi fenobarbital.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol biji labu (*Cucurbita moschata* *Durch*) terhadap indikator penilaian kualitas tidur lainnya.
2. Pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengondisian lokasi sehingga dapat mengontrol pengaruh luar seperti suara, cahaya, dan suhu yang bisa mempengaruhi kualitas tidur mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-shaarawy S, Zaidi ZF, Elmedani J. 2011. Reticular formation; a review. *International Journal of Integrative Biology*. Vol 12 no 1. College of Medicine and King Khalid University Hospital, Riyadh, Saudi Arabia.
- Brzezinski A, Wurtman R. Melatonin. In: Coates P, editor. *Encyclopedia of Dietary Supplements*. 2. 2010. pp. 538–49.
- Cherasse Y, Urade Y. 2017. Dietary zinc acts as a sleep modulator. *Int J Mol Sci*. 18(11): 2334. Tersedia dari: doi: 10.3390/ijms18112334
- Chokroverty S. 2010. Overview of sleep & sleep disorders. *Indian J Med Res*.13;126–40.
- Chung KH, Shin KO, Hwang HJ, Choi KS. 2013. Chemical composition of nuts and seeds sold in Korea. *Nutr Res Pract* 7: 82-8.
- Czeisler CA. 2000. Contribution of circadian physiology and sleep homeostasis to age-related changes in human sleep. *Chronobiology International*, 17(3), 285–311. doi:10.1081/cbi-100101049
- Cronquist A. 1981. An integrated system of clasification of flowering plants. Columbia University Press. New York.
- Dar AH, Sofi SA, Rafiq S. 2017. Pumpkin the functional and therapeutic ingredient. A review *India International Journal of Food Science and Nutrition* Department of Food Technology, IUST, Awantipora, Jammu and Kashmir
- Daniel PM, Love PR, Moorhouse SR, Pratt OE. 1981. The effect of insulin upon the influx of tryptophan into the brain of the rabbit. *J Physiol*. Volume 312 p 551-62.
- Dawson P. 2007. Sleep disorders. *Free Health Encyclopedia [Online Journal]* [diunduh 13 Desember 2018]. Tersedia dari: <http://www.faqs.org/>.
- Dutta S, Sengupta P. 2016. Men and mice: relating their ages. *Life Sciences*. 152;244–8.
- Furuse M. 2015. Screening of central functions of amino acids and their metabolites for sedative and hypnotic effects using chick models. *European*

- Journal of Pharmacology, 762, p 382-93. doi:10.1016/j.ejphar.2015.06.036
- Friedman M, Levin CE. 2012. Nutritional and medicinal aspects of D-amino acids. *Amino Acids*. 42(5):1553-82.
- Gargiulo S, Greco A, Gramanzini M, Esposito S, Affuso A, Brunetti A, *et al.*, 2012. Mice anesthesia. *ILAR J*. 53(1);1–13.
- Germain A, Nofzinger EA, Kupfer DJ, Buysse DJ. 2004. Neurobiology of NREM sleep in stress; futher evidence for hypofrontaliy and thalamic dysregulation. *Am J Psychiatry*. 161;1856-63
- Haghjoo E, Sadeghniiat K, Haghighi, Dabaghian FH, Shojaii A, Kenari HM. 2019. Efficacy of pumpkin oil (a persian medicine product) in the treatment of chronic insomnia: A randomized double-blind clinical trial. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 7 (6), p 471-81, 2019 ISSN 0719-4250 <http://jppres.com/jppres>
- Halsen SL. 2014. Sleep in elite athletes and nutritional interventions to enhance sleep. *Sports Medicine Journal*. [diunduh 4 April 2019] Tersedia dari: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4008810/>
- Haryono A, Rindiarti A, Arianti A, Pawitri A, Ushuluddin A, Setiawati A, Reza A. 2009. Prevalensi gangguan tidur pada remaja usia 12-15 tahun di sekolah lanjutan tingkat pertama. *Sari Pediatri* (Vol 11 no 3). [diunduh pada 2 Oktober2019] Tersedia dari: www.saripediatri.org
- Hartmann E, Spinweber CL. 1979. Sleep induced by L-tryptophan. Effect of dosages within the normal dietary intake. *J Nerv Ment Dis* 167:497–499.
- Hudson C, Hudson SP, Hecht T, MacKenzie J. 2005. Protein source tryptophan versus pharmaceutical grade tryptophan as an efficacious treatment for chronic insomnia. *Nutr Neurosci*. Apr; 8(2):121-7.
- Integrated Taxonomic Information System, 2010. *Mus musculus*. Tersedia dari: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180366#null [diunduh 1 Januari 2019].
- Japardi I. 2002. Gangguan tidur. Fakultas Kedokteran Bagian Bedah Universitas Sumatra Utara. USU Digital Library.
- Jenkins TA , Jason CD, Kate EP, Paul PB. 2016. Influence of tryptophan and serotonin on mood and cognition with a possible role of the gut-brain axis. *Nutrients*. doi: 10.3390/nu8010056
- Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. 2012. Basic & clinical pharmacology. EGC. KBBI. 2016. Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI). [Online] [diunduh 2

Oktober 2019] Tersedia dari: <http://kbbi.web.id/tidur>.

Laurence DR, Bacharach AL. 1964. Evaluation of Drug Activities: Pharmacometrics. Academic press. New York

Lewis CB, Adams N. 2019. Phenobarbital. Statpearls Publishing LLC. [Internet] PMID: 30335310 [diunduh pada 5 Oktober 2019] Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532277/>

Lieberman HR, Agarwal S, Fulgoni VL. 2016. Tryptophan intake in the US adult population is not related to liver or kidney function but is associated with depression and sleep outcomes. *J Nutr.*;146:2609S–2615S.

Longnecker DE, Brown DL, Newman MF, Zapol WM. 2008. Anesthesiology. Singapore: Mc Graw Hill.

Mansfield DR, Hillman DR, Antic NA, McEvoy RD, Rajartnam SMW. 2013. Sleep loss and sleep disorders. *MJA.* 199(8);5–6.

Michael J, Sateia MD. 2014. International classification of sleep disorders-third edition highlights and modifications. American College Of CHEST Physicians. [diunduh 2 Oktober 2019] Tersedia dari doi: 10.1378/chest.14-0970

Palego L, Betti L, Rossi A, & Giannaccini G. 2016. Tryptophan Biochemistry: structural, nutritional, metabolic, and medical aspects in humans. *Journal of Amino Acids* , 1–13. doi:10.1155/2016/89h52520

Patel S. 2013. Pumpkin (*Cucurbita* sp) seeds as neutraceutical: A review on status quo and scopes. *Mediterr J Nutr Metab* 6: 183-89.

Payne M. 2010. Nutrition and late-life depression: etiological considerations, NIH Public Access. [diunduh 25 November 2018]. Tersedia dari: <http://creativecommons.org>

Peuhkuri K, Sihvola N, Korpela R. 2012. Diet promotes sleep duration and quality. *Nutr Res.* 32(5):309-19 doi: 10.1016/j.nutres.2012.03.009

Rahimi BV, Askari V, Tajani A, Hosseini A, & Rakhshandeh H. 2018. Evaluation of the sleep-prolonging effect of *lagenaria vulgaris* and *cucurbita pepo* extracts on pentobarbital-induced sleep and possible mechanisms of action. *Medicina*, 54(4), 55. doi:10.3390/medicina54040055

Rancillac A. 2016. Serotonin and sleep-promoting neurons. *Oncotarget.* 7(48): 78222–78223. doi: 10.18632/oncotarget.13419

Russell WMS dan Burch RL. 1959. The Principles of Humane Experimental Technique. London (UK): Methuen Pr.

- Saito E, Iwatuki S, Koide A, Yajima M, Kojima Y. 2011. Nocturia-improving effects of water extracts of cucurbita pepo seeds. *J Jpn Soc Food Sci* 58(9): 454–459
- Sánchez CL, Van Swearingen AE, Arrant AE, Biskup CS, Kuhn CM, Zepf FD. 2015. Simplified dietary acute tryptophan depletion: effects of a novel amino acid mixture on the neurochemistry of C57BL/6J mice. *Food Nutr Res.*; 59:27424.
- Santoso EB, Basito, Rahadian D. 2013. Pengaruh penambahan berbagai jenis dan konsentrasi susu terhadap sifat sensoris dan fitokimia puree labu kuning (*Cucurbita moshata*). *Teknosains Pangan*, 2(3): 15- 26.
- Sari IK. 2017. Perbedaan kualitas tidur pasien gagal ginjal kronik yang menjalani terapi hemodialisa 2 kali dan 3 kali di rumah sakit PKU Muhammadiyah Yogyakarta. Research Repository UMY.
- Sherwood LZ. 2014. Fisiologi manusia dari sel ke sistem. Edisi 8. Jakarta: EGC.
- Sukohar A. 2015. Neurotransmitter tubuh; serotonin, asetilkolin, norepinephrin, dan GABA. Yogyakarta; Graha Ilmu.
- Sivertsen B, Harvey AG, Glozier N, Pallesen S. 2018. Sleep patterns and insomnia in young adults: A national survey of Norwegian university students. *Norwegia University*. [diunduh 5 Februari 2019] Tersedia dari: <http://doi.org/10.1111/jsr.12790>
- Smyth EM, FitzGerald GA. 2012. Barbiturate. *Basic & Clinical Pharmacology*, Mc Graw Hill, San Fransisco.
- Stoneham MD, Hill EL. 1997. Variability in post-operative fluid and electrolyte prescription. *Br J Clin Pract.*; 51:p 82–4
- Timothy C, Birdsall ND. 1998. 5-Hydroxytryptophan: A Clinically-Effective Serotonin Precursor Alternative Medicine Review. Vol 3 no 4 P-277
- Tortora GJ, Derrickson B. 2014. Principles of anatomy & physiology 14th edition. Singapore: McGraw-Hill
- United States Department of Agriculture. 2007. Nutrient data for 12016, seeds, pumpkin and squash seed kernels, roasted, without salt. USDA National Food and Nutrient Analysis Program Wave 12a
- Verhoeven MTW, Gerritzen MA, Hellebrekers LJ, Kemp B. 2015. Indicators used in livestock to assess unconsciousness after stunning: a review. *Animal*. 9(2); 320–30.
- Vogel HG. 2002. Drug discovery and evaluation: pharmacological assay. Springer Science & Business Media, Heidelberg; p 495

- Wijaya C, Sukohar A, Soleha TU. 2018. Pengaruh pemberian dosis bertingkat konsentrat tart cherry (*prunus ceracus*) terhadap perpanjangan waktu tidur mencit yang diinduksi fenobarbital. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung* (Vol 7 no 2). [diunduh 2 Oktober 2019] Tersedia dari: www.juke.kedokteran.unila.ac.id
- Widowati W, Sastiono A, Rumampuk RJ. 2008. Efek toksik logam. Penerbit Andi Yogyakarta, Yogyakarta, halaman 309-325
- Xie Z, Chen F, Li WA, Geng X, Li C, Meng X, Yu F. 2017. A review of sleep disorders and melatonin. *Neurological Research*, 39(6), 559–565. doi:10.1080/01616412.2017.1315864
- Zagajewski J, Drozdowicz D, Brzozowska I, Hubalewska-Mazgaj M, Stelmaszynska T, Laidler PM, Brzozowski T. 2012. Conversion L-tryptophan to melatonin in the gastrointestinal tract: the new high performance liquid chromatography method enabling simultaneous determination of six metabolites of L-tryptophan by native fluorescence and UV-VIS detection. *J Physiol Pharmacol*. 63(6):613-21.
- Zhou L, Huang KX, Kecojevic A, Welsh AM, Koliatsos VE. 2006. Evidence that serotonin reuptake modulators increase the density of serotonin innervation in the forebrain. *Journal of Neurochemistry*, 96(2), 396–406.[diunduh 3 Maret 2019] Tersedia dari: doi:10.1111/j.1471-4159.2005.03562.
- Zhu L, Zee PC. 2013. Circadian rhythm sleep disorders. *Neurol Clin*. 30(4);1167–91.
- Zhang HQ, Li N, Zhang Z, Gao S, Yin HY, Guo DM, Gao X. 2009. Serum zinc, copper, and zinc/copper in healthy residents of Jinan. *Biol. Trace Elem. Res*. Vol 131: p 25–32. doi: 10.1007/s12011-009-8350-9